

ダイズの塩ストレス耐性の遺伝的変異とその窒素吸収およびNa, Kの体内分布との関係

著者	宋 勇
号	54
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	農博第1189号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00123606

YONG SONG

氏名（本籍地） 宋 勇

学位の種類 博士（農学）

学位記番号 農博第 1189 号

学位授与年月日 平成 30 年 3 月 27 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項

研究科，専攻 東北大学大学院（博士課程）農学研究科資源生物科学専攻

論文題目 ダイズの塩ストレス耐性の遺伝的変異とその窒素吸収および Na, K の体内分布との関係

博士論文審査委員（主査）教授 本間 香 貴

教授 南 條 正 巳

准教授 伊 藤 豊 彰

論文内容要旨

ダイズの塩ストレス耐性の遺伝的変異と
その窒素吸収および Na, K の体内分布との関係

東北大学大学院農学研究科
資源生物科学専攻
宋 勇

指導教員 本間 香貴 教授

第1章 緒言

熱帯、亜熱帯の半乾燥地帯においては、土壌特性、不適切な灌漑あるいは津波、高潮による冠水などにより、表層に塩類が集積した土壌が広く分布し、作物生産が大きく阻害されている。塩集積が避けられない土壌においては、塩ストレス耐性の優れた作物種や品種の選択が重要である。

ダイズにおいては、塩ストレスにより、発芽や成長、根粒形成および収量が阻害、低下することが報告されている。一方、ダイズ品種の塩ストレス抵抗性には品種間で差異があることが報告されているが、そうした報告の多くは対象品種が限られている。さらにダイズにおいては根粒による窒素固定や子実への窒素の転流に伴う葉身の自己破壊など、窒素の吸収や利用が生産上重要な要因にも関わらず、塩ストレス耐性との関係は明らかになっていない。

こうした中でダイズ品種 FT-Abyara から塩類濃度を調節する *Nc1* 遺伝子が発見され、この遺伝子は Na^+ , K^+ , Cl^- の輸送を同時に調節することが明らかにされた (Tuyen et al. 2016)。この遺伝子を導入した2種類のダイズを育てたところ、地中の根で遺伝子が強く発現し、茎や葉での塩の蓄積が少なくなることが示された。また、Yasuta and Kokubun (2014) は、根粒超着生系統が塩ストレス下において窒素吸収量を維持し、障害を緩和することを示した。

農業生物資源研究所 (NIAS) は、必要最小限の系統数でダイズの遺伝的変異を幅広くカバーする研究用セット World Soybean Mini-Core Collection (コアコレクション) を開発した。コアコレクションには NIAS のジーンバンクに保存される遺伝資源の 96% 以上の遺伝的変異が包含されと考えられている。本研究では、コアコレクション 80 品種・系統に、*Nc1* 遺伝子領域が異なる準同質遺伝子系統 NILs 72-T/S, 根粒超着生/非着生系統 En-b0-1/En1282 とその親品種エンレイを与えて供試し、塩ストレス耐性とその種内変異を評価することを目的とする。さらに窒素の吸収と利用の観点から塩ストレス耐性を評価し、Na と K の体内分布も加えて耐性メカニズムの検討を行う。これらの結果は、塩ストレス耐性品種育成の基礎的知見を提示するものと考えられる。

第2章 乾物重に基づく塩ストレス耐性の遺伝的変異

塩ストレス条件下でダイズ品種・系統の遺伝的変異を評価するため、上述の 85 品種・系統をポット栽培し、第 2 本複葉完全展開後に塩処理を行い、処理期間中の葉色 (SPAD 値) と処理後の乾物重を調査した。塩ストレス耐性は、相対乾物重 [DW (S/C)] (対照区の乾物重に対する処理区の乾物重の割合) で評価した。対照区と比較して塩ストレスによって乾物重は低下し、DW (S/C) は品種・系統間で幅広い遺伝的変異を示し、正規分布となった (図 1)。DW (S/C) による評価において兩年とも上位 20 位に入った品種を耐性品種、下位 20 位に入った品種を感受性品種、それ以外の品種を中間品種と判定した。塩ストレス耐性として、Sandek Sieng, Tegineneng, M 44, L 317, Ringgit, E C 112828, Keumdu, U 1416, U-1741-2-2 NO.3 の 9 品種・系統が、感受性として M 42, N 2392, Petek, Karasumame(shinchiku), Shirosota, HM 39, Col/Pak/1989/IBPGR/2323(2), JAVA 5, Anto Shoukokutou の 9 品種・系統がそれぞれ抽出された (表 1)。いくつかの品種は塩ストレス耐性遺伝子をもつ系統 NIL 72-T より強い耐性を示し (表 1)、今後の育成材料として期待される。

第3章 塩ストレス耐性と窒素吸収関連形質との関係

本章では、塩ストレスが 85 品種・系統の窒素吸収量、根粒形成能、窒素利用効率 (PNUE) および SPAD 値に及ぼす影響を検討した。塩ストレス条件下で、地上部の窒素含量が低下した (図 2)。感受性および中間品種と比較して塩ストレス耐性品種は、塩ストレス条件下で窒素含量を比較的高く維持し、物質生産の低下を抑制することが示された (図 3 および表 2)。塩ストレス耐性の指標である DW (S/C) は、根粒諸形質と有意な相関を示し (図 4)、PNUE の相対値と有意な順位相関を示した (図 5)。以上のことより耐性品種は高い PNUE を示し、それには根粒が関与していることが考えられた (図 6)。さらに DW (S/C) は、葉の窒素含量の相対値 (対照区に対する処理区の割合) と有意な相関を示し (図 7)、SPAD の相対値とも有意な相関を示した (図 8)。このことは SPAD 値を用いて塩ストレス耐性の評価が可能であることを示唆している (図 9)。

第4章 Na, K の体内分布に基づく塩ストレス耐性機構の評価

第3章において同定された塩ストレス耐性品種と感受性品種、各9品種ずつを供試し、部位別のNa, Kの分配を分析した。対照区と比較して、処理区の個体のNa濃度が増加する傾向にあった。一般的に感受性品種と比較して耐性品種のNa濃度は、葉や茎において低く、根において高かった。しかしながら耐性品種M44, U-1741-2-2 NO.3においては、葉のNa濃度が高く、塩ストレス耐性機構が他の品種とは異なることが示唆された(表3)。

第5章 総合考察

コアコレクションを用いて塩ストレス耐性を評価し、ダイズにおける種内変異の程度を評価することができた。いくつかの品種は、塩ストレス耐性遺伝子を持つ系統NIL 72-T より強い耐性を示し、耐性メカニズムの解明や耐性品種育成への利用が期待できる。

ダイズの地上部窒素含量は、塩ストレス下であっても物質生産の維持に対して重要な役割を担うことが示唆された。耐性品種は窒素吸収を維持することで光合成の低下を軽減する能力を有し、結果的にPNUEならびに物質生産の維持につながっていると考えられた。窒素含量の維持には根粒による窒素固定能の維持が関与していると考えられた。さらにSPADを用い塩ストレス耐性を評価しうることが示され、育種現場への応用が期待できる。

ダイズでは一般的に吸収したNaが根から葉へ多量に移行し、それにより光合成が低下し、物質生産が低下すると考えられている。本研究では9品種中7品種の耐性品種で、吸収したNaを根に留め、葉への移行を抑制し、耐性を示すことが確認できた。しかしながら残り2品種では葉へのNa移行が感受性品種と同程度に生じており、別な耐性機構の存在が示唆された。

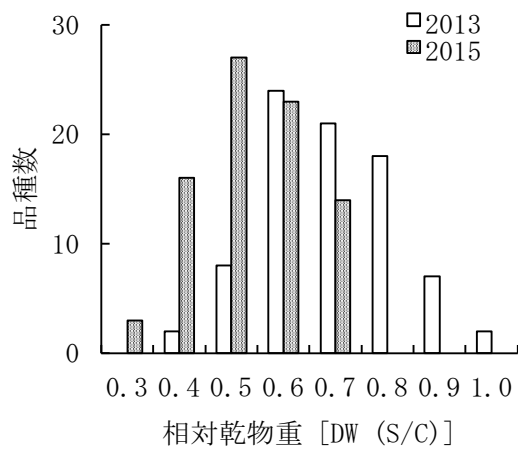


図 1. 相対乾物重の度数分布.

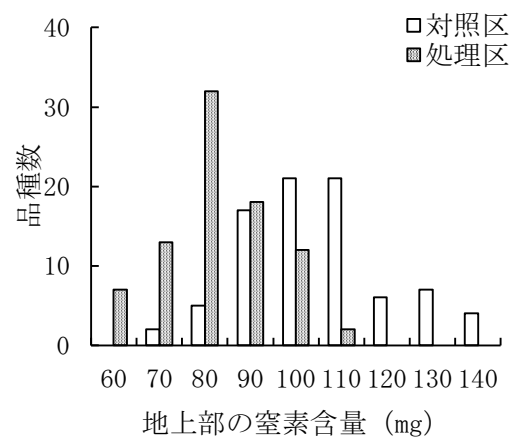


図 2. 地上部の窒素含量の度数分布.

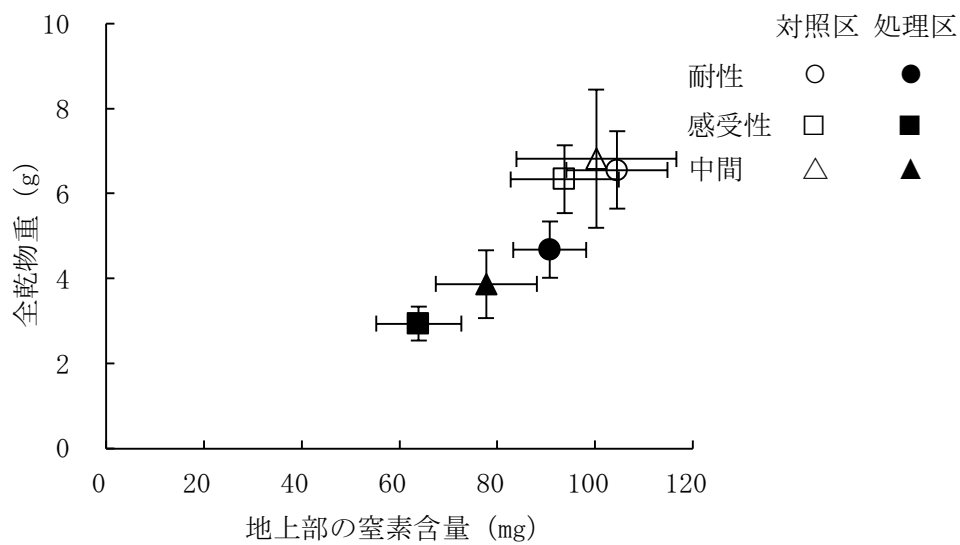


図 3. 塩ストレス耐性，感受性と中間品種の全乾物重と地上部窒素含量の平均値.

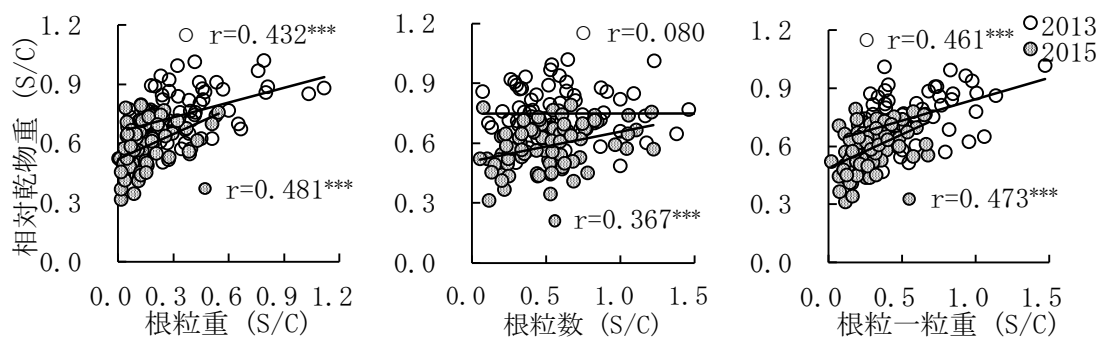


図 4. 相対乾物重 (S/C) と根粒形質の相対値 (S/C) との関係. ***は 0.1%水準で有意な相関を示す.

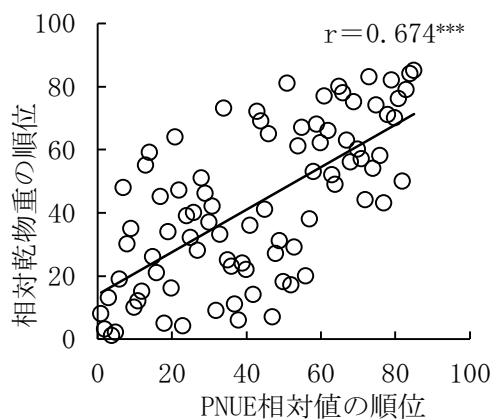


図 5. 窒素利用効率相対値の順位と相対乾物重の順位との関係. ***は 0.1%水準で有意な相関を示す.

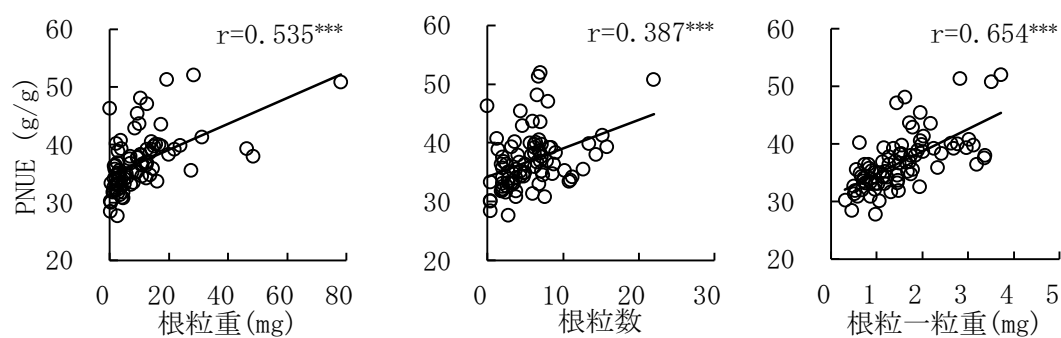


図 6. 窒素利用効率と根粒形質との関係. ***は 0.1%水準で有意な相関を示す.

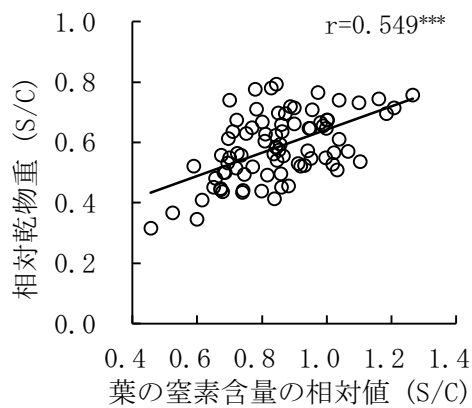


図 7. 葉の窒素含量の相対値と相対乾物重との関係. ***は 0.1%水準で有意な相関を示す.

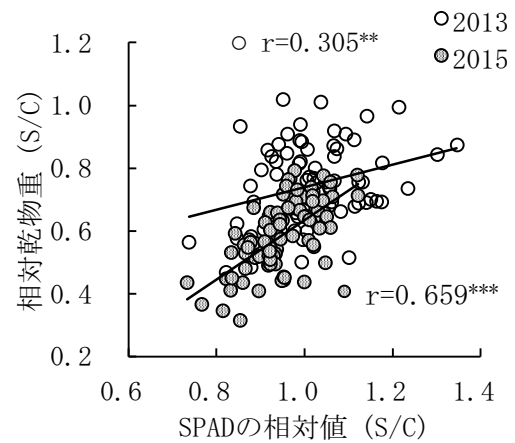


図 8. SPAD 値の相対値と相対乾物重との関係. **, ***はそれぞれ 1%, 0.1%水準で有意な相関を示す.

U 1416



M 42



図 9. 塩ストレス耐性品種 (U 1416) と感受性品種 (M 42) の比較. 2015 年に NaCl 濃度 150mM 処理 3 日間後に撮影.

表 1. 選抜した塩ストレス耐性, 感受性と NILs 72-T/S の相対乾物重.

耐性品種	相対乾物重 (S/C)			感受性品種	相対乾物重 (S/C)		
	2013	2015	平均値		2013	2015	平均値
Sandek Sieng	0.99	0.71	0.85	NIL72-S	0.77	0.50	0.64
Tegineneng	0.91	0.74	0.83	Anto Shoukokutou	0.66	0.50	0.58
M 44	0.97	0.67	0.82	JAVA 5	0.62	0.50	0.56
L 317	0.92	0.70	0.81	Col/Pak/1989/IBPGR/2323	0.63	0.48	0.56
Ringgit	0.87	0.73	0.80	HM 39	0.65	0.45	0.55
E C 112828	0.89	0.71	0.80	Shirosota	0.65	0.44	0.55
Keumdu	0.85	0.74	0.79	Karasumame (Shinchiku)	0.61	0.45	0.53
U 1416	0.84	0.74	0.79	Petek	0.57	0.49	0.53
NIL72-T	0.93	0.64	0.79	N 2392	0.60	0.45	0.52
U-1741-2-2 NO.3	0.86	0.67	0.77	M 42	0.47	0.41	0.44
平均値	0.90	0.71	0.81	平均値	0.61	0.46	0.54

表 2. 選抜した塩ストレス耐性, 感受性の相対乾物重, 地上部の窒素含量とその相対値.

耐性品種	相対乾物重 (S/C)	地上部の N 含量 (mg)	地上部の N 含量 (S/C)	感受性品種	相対乾物重 (S/C)	地上部の N 含量 (mg)	地上部の N 含量 (S/C)
Sandek Sieng	0.85	91.4	0.84	Anto Shoukokutou	0.66	73.6	0.68
Tegineneng	0.83	94.8	0.97	JAVA 5	0.62	75.7	0.78
M 44	0.82	82.4	0.73	Col/Pak/1989/IBPGR/2323	0.63	58.5	0.61
L 317	0.81	78.0	0.80	HM 39	0.65	55.6	0.60
Ringgit	0.80	91.0	0.94	Shirosota	0.65	64.0	0.69
E C 112828	0.80	107.9	0.94	Karasumame (Shinchiku)	0.61	77.4	0.78
Keumdu	0.79	92.6	1.04	Petek	0.57	59.9	0.71
U 1416	0.79	88.5	0.71	N 2392	0.60	61.9	0.59
U-1741-2-2 NO.3	0.77	89.7	0.93	M 42	0.47	48.7	0.73
平均値	0.81***	90.7***	0.88***	平均値	0.61	63.9	0.69

***は 0.1%水準で有意差があることを示す.

表 3. 選抜した塩ストレス耐性, 感受性の葉, 根の Na 濃度とその比率.

耐性品種	Na 濃度 (mg/g)			感受性品種	Na 濃度 (mg/g)		
	葉	根	葉/根		葉	根	葉/根
Sandek Sieng	0.58	22.7	0.03	Anto Shoukokutou	3.87	15.6	0.25
Tegineneng	2.13	25.4	0.08	JAVA 5	3.74	15.3	0.26
M 44	6.40	22.4	0.31	Col/Pak/1989/IBPGR/2323	6.77	14.6	0.48
L 317	1.48	21.8	0.07	HM 39	9.21	20.6	0.45
Ringgit	1.88	23.5	0.08	Shirosota	8.17	17.0	0.49
E C 112828	1.02	22.8	0.04	Karasumame (Shinchiku)	5.03	19.8	0.26
Keumdu	2.43	20.6	0.12	Petek	3.59	20.5	0.18
U 1416	1.38	27.7	0.05	N 2392	6.62	15.9	0.41
U-1741-2-2 NO.3	5.08	24.3	0.21	M 42	7.14	20.8	0.34
平均値	2.49***	23.5***	0.11***	平均値	6.02	17.8	0.35

***は 0.1%水準で有意差があることを示す.

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏名	宋 勇
審査委員	主査：教授 本間 香貴 副査：教授 南條 正巳 准教授 伊藤 豊彰
学位論文 題目	ダイズの塩ストレス耐性の遺伝的変異とその窒素吸収およびNa, K の体内分布との関係
論文審査の結果の要旨	
熱帯、亜熱帯の半乾燥地帯においては塩類が集積した土壌が広く分布し、作物生産が大きく阻害されている。ダイズは重要なマメ科作物であるにもかかわらず、塩ストレスに弱く、育種的な改良が必要とされている。特にダイズにおいては共生根粒による窒素固定や子実への窒素の転流に伴う葉身の自己破壊など、窒素の吸収や利用が生産上重要な要因にも関わらず、塩ストレス耐性との関係は明らかになっていなかった。本研究は農業生物資源研究所が提供するダイズの遺伝資源セット World Soybean Mini-Core Collection (コアコレクション) を中心に、塩ストレス耐性評価を行い、窒素吸収関連形質やNa とK の体内分布を解析し、耐性機構について検討を行った。 2 カ年行ったポット実験では塩ストレス環境下の乾物生産性に大きな変異を	

示し、年次間差も観察されたが、相対乾物重を用いた評価方法により塩ストレス耐性 9 品種と感受性 9 品種を同定することができた。また、耐性の強い品種・系統は、塩ストレス環境下でも窒素吸収量の低下程度が小さく、窒素利用効率を維持することにより、乾生産性を維持していることがわかった。こうした窒素吸収量の維持には、根粒形質の維持が関与しており、特に根粒 1 個重の関与が大きかった。	耐性品種の評価に用いた相対乾物重は、対照区に対する塩処理区の葉色 (SPAD) の相対値との相関がみられた。このことは SPAD 計を用いることにより、簡易に塩ストレス耐性を評価可能であることを示唆しており、今後の育種などでの利用が期待できる。
耐性 9 品種中 7 品種で根に Na を蓄積し、茎葉への移行を制限することで、耐性を発揮していることが確認された。一方で、残り 2 品種では感受性品種と同程度に Na が葉身に移行していることが確認され、他の耐性機構の存在が示唆された。	以上の宋勇氏のダイズの塩ストレス耐性に関する知見は、1 報の原著論文に公表され、今後の品種育成に資するものと考えられる。従って審査員一同は、本論文が博士 (農学) の学位にふさわしいものと判定した。